

COATING OF LIPOSOME USING O-PALMITOYLSCLEROGUCAN SULFATE AND DRUG DELIVERY SYSTEM USING THE LIPOSOME

Publication number: KR20050081889

Publication date: 2005-08-19

Inventor: LEE KI YOUNG (KR); YUN HEE SUN (KR); LEE
CHANG MOON (KR); KIM GWANG YUN (KR)

Applicant: LEE KI YOUNG (KR)

Classification:

- **International:** (IPC1-7): A61K9/127; A61K31/702

- **European:**

Application number: KR20050060496 20050705

Priority number(s): KR20050060496 20050705

Report a data error here

Abstract not available for KR20050081889

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) . Int. Cl.⁷
A61K 9/127
A61K 31/702

(11) 공개번호 10-2005-0081889
(43) 공개일자 2005년08월19일

(21) 출원번호 10-2005-0060496
(22) 출원일자 2005년07월05일

(71) 출원인 이기영
광주광역시 북구 일곡동 롯데아파트 106-804

(72) 발명자 이기영
광주광역시 북구 일곡동 롯데아파트 106-804
윤희선
광주 광산구 우산동 1076-21번지
이창문
광주 북구 오치동 967-15번지 아성빌 A동 101호
김광윤
광주 북구 우산동 현대아파트 104동 1103호

심사청구 : 있음

(54) 팔미토일스클레로글루칸 설펜이트를 이용한 리포솜 코팅과이를 이용한 약물전달시스템

요약

경구용 약물 전달체로써 널리 이용되어 온 리포솜은 위장관 내 생리 환경으로부터 약물을 충분히 보호하지 못하고, 리포솜 자체가 가지는 불안정성 때문에 그 표면을 다당으로 코팅하여 보다 생체 내 안정성을 가지는 고분자 코팅 리포솜을 개발하기 시작했다. 이러한 다당 중 β -D-1, 3-glucopyranosyl 단위 3개당 한 개의 β -D-1, 6-glucopyranosyl 단위가 가지 결합 형태로 되어있는 scleroglucan을 이용한 리포솜 코팅과 이를 이용한 약물전달체로의 응용에 관한 것이다. 본 발명은 Fungus *Sclerotium Rolfsii*에서 분리된 scleroglucan에 sulfate기를 화학적으로 도입하여 친수성과 면역 증진력을 높이고, 소수성인 O-palmitoyl기를 scleroglucan에 도입하여 리포솜에 코팅할 수 있게 된다. 화학적 방법을 통해 제조한 O-palmitoylscleroglucan sulfate (이하 OPSS이라 칭함)로 리포솜을 코팅한 뒤, 생체 내 안정성, 약물 방출 등을 통해 코팅하지 않은 종전의 리포솜과의 차이점을 제시하고, OPSS 코팅 리포솜이 경구용 약물 전달 시스템에 유용하다는 것을 제시함으로써 새로운 다당체 코팅 리포솜의 제조와 이를 이용한 약물전달 시스템을 제공한다.

대표도

도 1

색인어

Scleroglucan, OPSS 코팅 리포솜, 리포솜 안정성, 약물전달 시스템

명세서

도면의 간단한 설명

Scleroglucan에 sulfate기를 부착하기 위해, 정제된 scleroglucan 4 g과 SO₃-pyridine (sulfur trioxide pyridine complex) 24 g을 pyridine 320 ml에 넣어 85℃에서 6시간 동안 교반시킨 후 상온에서 식힌다. 이를 10%(w/v) NaOH 용액 400 ml를 넣어 교반시킨 후 acetone을 첨가한다. 침전물을 모은 후 acetone으로 3차례 세척한다. 증류수 100 ml을 넣어서 침전물을 용해시킨 후 하루 동안 투석한 다음 동결건조 하여 회수하였다.

1-2. Scleroglucan sulfate의 palmitation

상기 물질을 리포솜에 코팅하기 위해 소수성기인 palmitoyl기를 부착한다. 합성한 1 g의 scleroglucan sulfate를 40 ml dimethylformamide (DMF)에 넣어 60℃에서 2~3시간 동안 교반시키고, 0.1 g의 palmitoylchloride와 1 ml의 pyridine 그리고 0.24 ml의 DMF를 넣어 4시간 동일한 온도에서 교반시킨다. 이를 1시간 동안 방치하여 식히고 70 ml의 ethanol에 천천히 부은 다음, 가라앉은 물질만 모아서 ethanol 80 ml과 diethylether 60 ml이 혼합된 용액으로 세척하여 50℃에서 2시간 동안 진공건조시켜 palmitoyl기가 결합된 OPSS를 합성한다.

1-3. OPSS를 이용한 리포솜 코팅

OPSS를 리포솜 지질막에 코팅하기 위해, 먼저 리포솜을 다음과 같은 방법으로 제조한다. 인지질인 phosphatidylcholine과 stearylamine, cholesterol을 10 : 3 : 1의 몰 비로 chloroform과 methanol (1:1 v/v)의 혼합 용매에 용해하여 회전증발기를 이용하여 약 2시간 동안 evaporation시켜 박막형태로 만든 후, 0.15 M의 NaCl에 용해한 0.1%(w/v) concanavalin A (Con A) 용액 10 ml을 첨가하여 소포체를 제조하고 약 5분 동안 초음파 처리하여 입자를 균일하게 하여 리포솜을 제조한다. OPSS 코팅 리포솜은 합성한 OPSS를 표 1과 같은 비율로 PBS buffer에 용해하여 리포솜 현탁액과 혼합하고 1시간 동안 충분히 교반한다. 제조한 OPSS 코팅 리포솜의 입자 평균 크기를 electrophoretic light scattering spectrophotometer (ELS-8000, Photol, Japan)를 이용하여 측정한다.

[표 1]

OPSS:Lipid (weight ratio)	입자 평균 크기
0 : 10	256 ± 30 nm
3 : 17	359 ± 90 nm
6 : 14	648 ± 39 nm
9 : 11	1016 ± 18 nm

1-4. OPSS 코팅 리포솜의 담즙산에서 안정성 측정

담즙산염에서의 안정성 측정은, 일정 농도의 담즙산염 용액에 코팅되지 않은 리포솜과 OPSS 코팅 리포솜을 넣어 정해진 시간별로 탁도의 변화를 측정하는 것으로 평가한다. OPSS 코팅 리포솜 (OPSS:lipid=3:17인 경우) 용액 3 ml에 2.5 mM과 5 mM의 글리코콜린산나트륨 용액(pH 5.6) 3 ml을 가하여 37℃에서 6시간 동안 보관하면서 일정 시간대별로 채취하여 595 nm에서 흡광도를 측정한다. 측정한 흡광도를 이용하여 다음과 같은 식에 의해 탁도를 측정한다.

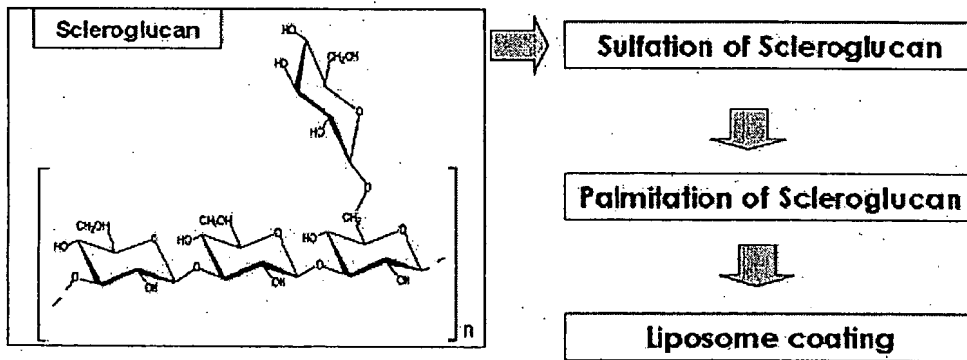
$$\text{Relative Turbidity} = A_t/A_0$$

여기서 A₀는 리포솜 용액의 초기 흡광도이고, A_t는 담즙산 용액과 혼합하여 배양한 t시간 후의 흡광도이다.

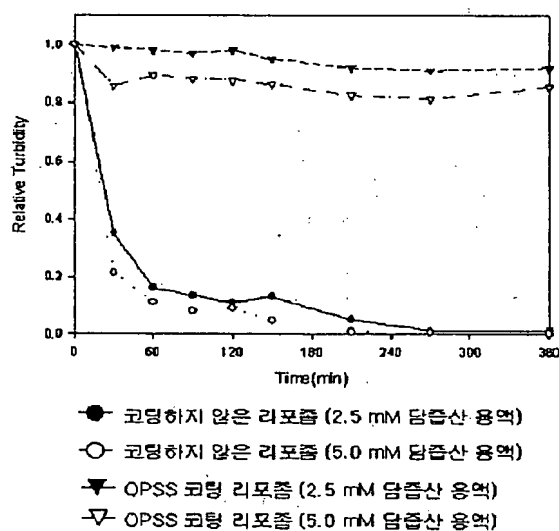
도 3은 담즙산염에서의 안정성을 나타낸 그래프이다. 코팅되지 않은 리포솜은 30분 만에 2.5 mM에서의 담즙산염에서는 탁도가 0.35, 5.0 mM에서는 0.213을 보였으며, 각각 60분과 120분 후에 탁도가 0.1 이하로 감소함을 보였다. 반면, OPSS로 코팅된 리포솜은 2.5 mM 담즙산염에서 360분까지 탁도가 0.92, 5.0 mM에서는 탁도가 0.856을 보였고 이는 코팅하지 않은 리포솜 보다 OPSS 코팅 리포솜이 담즙산염 내에서 안정하다는 것을 나타낸다.

1-5. OPSS 코팅 리포솜으로부터 약물 방출

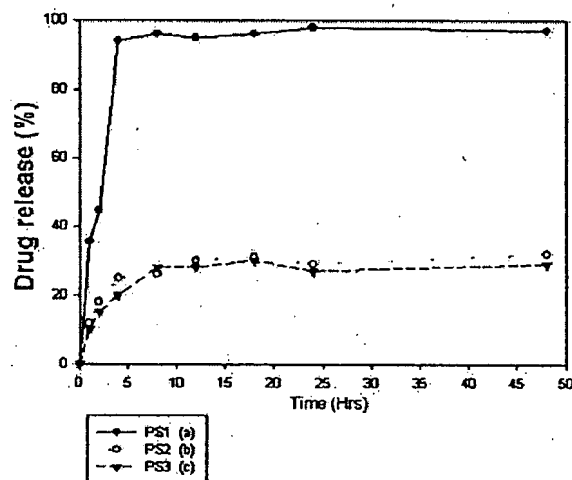
도면2



도면3



도면4



(51) Int.Cl. A61K 9/127

A61K 31/702

Publication No 10-2005-0081889

Publication Date 2005-08-19

Application No 10-2005-0060496

Application Date 2005-07-05

Inventor

Gi-Yeong Lee
Hui-Seon Yoon
Chang-Mun Lee
Gwang-Yun Kim

Applicant Gi-Yeong Lee

Examination Requested

Title of Invention COATING OF LIPOSOME USING O-PALMITOYLSCLEROGLUCAN SULFATE AND DRUG DELIVERY SYSTEM USING THE LIPOSOME



Abstract

The liposome which has been being widely used as the oral medicinal water communications enough was unable to protect a drug from the gastrointestinal tract my physiology environment. It began to develop the polymeric coating-liposome which therefore coated the surface in the polysaccharide with instability, of the liposome itself had the vivo stability. It relates to the application of the liposome coating using the scleroglucan in which it becomes β -D-1, β -D-1 of 3-glucopyranosyl unit 3 a piece unit, and 6-glucopyranosyl unit among this polysaccharide to the kinds hybrid form and the drug carrier using the same. The present invention chemically introduces a sulfate to the scleroglucan separated from the Fungus Sclerotium Rolfsii and it enhances the hydrophile property and immune enhancer power. It introduces O-palmitoyl to a scleroglucan and is a hydrophobicity it coats on a liposome. The difference from the liposome of the prior which after it coats a liposome in the O-palmitoylscleroglucan sulfate (it calls because of being below OPSS) manufactured through the chemical method, it does not coat through the vivo stability, a drug-releasing etc the Holotrichia of the new by presenting that the OPSS coating liposome is useful in the oral medicinal water delivery system. Polysaccharide coating liposome presenting, and the drug delivery system using the same is provided.

경구용 약물 전달체로써 널리 이용되어 온 리포솜은 위장관 내 생리 환경으로부터 약물을 충분히 보호하지 못하고, 리포솜 자체가 가지는 불안정성 때문에 그 표면을 다당으로 코팅하여 보다 생체 내 안정성을 가지는 고분자 코팅 리포솜을 개발하기 시작했다. 이러한 다당 중 β -D-1, 3-glucopyranosyl 단위 3개당 한 개의 β -D-1, 6-glucopyranosyl 단위가 가지 결합 형태로 되어있는 scleroglucan을 이용한 리포솜 코팅과 이를 이용한 약물전달체로의 응용에 관한 것이다. 본 발명은 Fungus Sclerotium Rolfsii에서 분리된 scleroglucan에 sulfate기를 화학적으로 도입하여 친수성과 면역 증진력을 높이고, 소수성인 O-palmitoyl기를 scleroglucan에 도입하여 리포솜에 코팅할 수 있게 된다. 화학적 방법을 통해 제조한 O-palmitoylscleroglucan sulfate (이하 OPSS이라 칭함)로 리포솜을 코팅한 뒤, 생체 내 안정성, 약물 방출 등을 통해 코팅 하지 않은 종전의 리포솜과의 차이점을 제시하고, OPSS 코팅 리포솜이 경구용 약물 전달 시스템에 유용하다는 것을 제시함으로써 새로운 다당체 코팅 리포솜의 제조와 이를 이용한 약물전달 시스템을 제공한다.



Representative Drawing(s)

Fig. 1



Keyword(s)

The scleroglucan, OPSS coating liposome, liposome stability, drug delivery system.



Description

Brief Explanation of the Drawing(s)

Fig. 1 is a schematic diagram of the O-palmitoyl scleroglucan sulfate coating liposome.

도 1은 O-palmitoyl scleroglucan sulfate 코팅 리포솜의 모식도이다.

Fig. 2 is a drawing simply showing the O-palmitoyl scleroglucan sulfate synthetic sequence and liposome coating procedure.

도 2는 O-palmitoyl scleroglucan sulfate 합성 순서와 리포솜 코팅 순서를 간단하게 나타낸 그림이다.

Fig. 3 is a graph showing the stability in the bile acid of the liposome which it does not coat and OPSS coating liposome.

도 3은 코팅하지 않은 리포솜과 OPSS 코팅 리포솜의 담즙산에서 안정성을 나타낸 그래프이다.

Fig. 4 is a graph showing the drug-releasing at the artificial gastric juice from the liposome which it does not coat and OPSS coating liposome.

도 4는 코팅하지 않은 리포솜과 OPSS 코팅 리포솜으로부터 인공위액에서의 약물 방출을 나타낸 그래프이다.

Fig. 5 is a graph showing the drug-releasing at the artificial intestinal juice from the liposome which it does not coat and OPSS coating liposome.

도 5는 코팅하지 않은 리포솜과 OPSS 코팅 리포솜으로부터 인공장액에서의 약물 방출을 나타낸 그래프이다.

Details of the Invention

Purpose of the Invention

- The Technical Field to which the Invention belongs and the Prior Art in that Field

A liposome referred to the endoplasmic reticulum consisting of the lipid bilayer. And it had an advantage and the bio compatibility which at the same time, it could seal within the fat-soluble drug or the water soluble drug everyone liposome and a liposome was frequently used as the drug carrier. Hashimoto and Kawadas (Endocrinol. Japan, 26, 337-344, 1979) sealed the insulin within the liposome charging to the negative principle in nature and it was the oral administration and it observed the change of the blood glucose in the animal. But the liposome of a prior enough is unable to protect the sealed drug which is unstable in the physiology environment within the gastrointestinal tract and it experiences difficulties in an application as the oral medicinal water transporter of being many. The various as to the method, for heightening the physical stability of a liposome was presented. A method etc. were the method for adding the cholesterol and reducing the mobility of a film and the room controlling the composition of a phospholipid, and the outer ring of the lipid membrane studied to a polymer. It surrounded. By using the method for using the natural polysaccharide among the method for using the double polymer, and the natural polysaccharide which does not give a year to the human body particularly when administering to an oral, the stability of a liposome is improved. Methods which enough protect a drug and enhance the effect of delivery of a drug within an organism are groped for. However, the result of having with significance especially does not obtain. It has the amylose, meeting an amylopectin etc. and a chitosan, a flurane, and a text are reported to natural polysaccharides which are studied in order to improve a present, and the stability of a

liposome that it surrounds the liposome membrane and such polysaccharides contribute to a stability. In the future, the material color and the technology which it manufactures for several uses, in order to be used and it synthesizes of the administration route which is more wide by improving the stability of a liposome, are needed.

리포솜은 지질 이중층으로 이루어진 소포체를 말하며, 지용성 약물이나 수용성 약물을 모두 리포솜 내에 동시에 봉입할 수 있는 장점과 생체적합성을 가지고 있어 약물 전달체로 자주 사용되어져 왔다. Hashimoto와 Kawada (Endocrinol. Japan, 26, 337-344, 1979)는 음으로 하전된 리포솜 내에 인슐린을 봉입하고 동물에 경구투여하여 혈중 포도당의 변화를 관찰하였다. 그러나, 중전의 리포솜은 위 장관 내의 생리 환경에 불안정하여 봉입된 약물을 충분히 보호해 주지 못하여 경구용 약물 수송체로서의 응용에 많은 어려움을 겪고 있다. 리포솜의 물리적인 안정성을 높이는 방법은 여러 가지가 제시되는데, 콜레스테롤을 첨가하여 막의 유동성을 감소시키는 방법과 인지질의 조성을 조절하는 방법, 지질 막의 외곽을 고분자 물질로 둘러싸는 방법 등이 연구되어져 왔다. 이 중 고분자 를 이용하는 방법 중에서 천연 다당을 이용하는 방법, 특히 경구로 투여할 때 인체에 해를 주지 않는 천연 다당을 이용하여 리포솜의 안정성을 향상시키고, 약물을 충분히 보호 하여 생체 내로 약물의 전달 효과를 높이는 방법들이 모색되고 있다. 하지만, 유의성 있는 결과는 별로 얻고 있지 못하다. 현재, 리포솜의 안정성을 향상시키기 위해 연구되고 있는 천연 다당들에는 키토산, 플루란, 덱스트란, 만난, 아밀로스, 아밀로펙틴 등이 있고 이러한 다당들이 리포솜 막을 둘러싸고 안정성에 기여한다고 보고되고 있다. 앞으로 리포솜의 안정성을 향상시킴으로써 더 넓은 투여 경로의 모색과 다양한 용도로 사용될 수 있도록 제조하고 합성하는 기술이 필요하다.

The present invention relates to the application of a scleroglucan among such natural polysaccharide and is to provide the improved stability within the method for chemically ornamenting proper more concretely, it surrounds a liposome with a material and organism, and the utility of the drug delivery system.

본 발명은 이러한 천연 다당 중에서 scleroglucan의 응용에 관한 것으로서, 더 상세하게는 상기 물질로 리포솜을 둘러싸기 위해 적절하게 화학적으로 수식하는 방법과 생체 내에서의 향상된 안정성, 약물 전달 시스템으로의 유용성을 제공한다.

• The Technical Challenges of the Invention

The present invention takes notice of the point as described in the above. By coating the lipid membrane by using the natural polysaccharide chain scleroglucan the drug carrier a liposome it improves the stability within an organism. It is a purpose to heighten the drug delivery system an utility. More concretely, the Holotrichia of the synthesis which includes the chemical modification of the scleroglucan which is the polysaccharide in order to coat a liposome and the liposome in which the scleroglucan derivative is coated and drug carrier a possibility is evaluated and the new drug delivery system tries to be provided.

본 발명은 상기와 같은 점에 착안하여, 약물 전달체로서의 리포솜을 천연 다당체인 scleroglucan을 이용하여 지질막을 코팅함으로써 생체 내에서의 안정성을 향상 시키고, 약물 전달 시스템으로의 유용성을 높이는 것이 목적이다. 더 상세하게는 리포솜을 코팅하기 위해 다당체인 scleroglucan의 화학적 수식을 포함한 합성과 scleroglucan 유도체가 코팅된 리포솜의 제조 및 약물 전달체로서의 가능성을 평가하여 새로운 약물 전달 시스템을 제공하고자 한다.

▪ Structure & Operation of the Invention

It is included to irradiate the stability evaluation and drug-releasing tendency of the step: step: OPSS coating liposome manufactured and coats a liposome by using the O-palmitoylscleroglucan sulfate (OPSS) uniting a sulfate and palmitoyl with the scleroglucan according to the present invention for achieving the above described object and synthesized evaluate the utility.

상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명에 따른 scleroglucan에 sulfate와 palmitoyl기를 결합하여 합성하는 단계; O-palmitoylscleroglucan sulfate(OPSS)를 이용하여 리포솜을 코팅하는 단계; 제

조한 OPSS 코팅 리포좀의 안정성 평가 및 약물 방출 경향을 조사하여 그 유용성을 평가하는 것을 포함된다.

The embodiment of below the present invention is described. The following embodiment is to exemplify the present invention but the present invention is not restricted to the following embodiment.

이하 본 발명의 실시 예를 기재한다. 하기 실시 예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명이 하기 실시 예에 한정되는 것은 아니다.

Embodiment 1.

실시 예 1

1-1. The sulfation of Scleroglucan.

1-1. Scleroglucan의 sulfation

In order that a sulfate is adhered to Scleroglucan, after the scleroglucan 4 g and the refined SO₃-pyridine (sulfur trioxide pyridine complex) 24 g being put into the pyridine 320 ml and mixing at 85°C for 6 hours, it cools in the room temperature. After 10 % (w/v) NaOH solution 400 ml being put and mixing this, the acetone is added. It washes to the acetone with about 3 times after collecting a precipitate. After receiving hemodialysis for treating for the day after the distilled water 100 ml being put and dissolving a precipitate, it froze and dries and it collected.

Scleroglucan에 sulfate기를 부착하기 위해, 정제된 scleroglucan 4 g과 SO₃-pyridine (sulfur trioxide pyridine complex) 24 g을 pyridine 320 ml에 넣어 85°C에서 6시간 동안 교반시킨 후 상온에서 식힌다. 이를 10%(w/v) NaOH 용액 400 ml를 넣어 교반시킨 후 acetone을 첨가한다. 침전물을 모은 후 acetone으로 3차례 세척한다. 증류수 100 ml을 넣어서 침전물을 용해시킨 후 하루 동안 투석한 다음 동결건조 하여 회수하였다.

1-2. The palmitation of the Scleroglucan sulfate.

1-2. Scleroglucan sulfate의 palmitation

The hydrophobicity eccentric person palmitoyl is adhered to order to coat a material on a liposome. The scleroglucan sulfate of 1 g synthesized is put into 40 ml dimethylformamide (DMF) and it mixes at 60°C for 2 ~ 3 hours. DMF of the pyridine of the palmitoylchloride of 0.1 g and 1 ml and 0.24 ml are put and it mixes at the identical with 4 hour temperature. After this is left as it is for 1 hour and it cools and it slowly pours into the ethanol of 70 ml, the settled material collects and it washes to the solution in which the ethanol 80 ml and diethylether 60 ml are mixed and it dries in a vacuum at 50°C for 2 hours and OPSS in which a palmitoyl is combined is synthesized.

상기 물질을 리포좀에 코팅하기 위해 소수성기인 palmitoyl기를 부착한다. 합성한 1 g의 scleroglucan sulfate를 40 ml dimethylformamide (DMF)에 넣어 60°C에서 2 ~ 3시간 동안 교반시키고, 0.1 g의 palmitoylchloride와 1 ml의 pyridine 그리고 0.24 ml의 DMF를 넣어 4시간 동일한 온도에서 교반시킨다. 이를 1시간 동안 방치하여 식히고 70 ml의 ethanol에 천천히 부은 다음, 가라앉은 물질만 모아서 ethanol 80 ml과 diethylether 60 ml이 혼합된 용액으로 세척하여 50°C에서 2시간 동안 진공건조시켜 palmitoyl기가 결합된 OPSS를 합성한다.

1-3. The liposome coating using OPSS.

1-3. OPSS를 이용한 리포좀 코팅

In order that OPSS is coated on the liposome lipid film, firstly a liposome is manufactured with the method as follows. After a phosphatidylcholine and the stearylamine which is a phospholipid, and the cholesterol being dissolved at the mixed solvent of the methanol (1:1 v/v) and chloroform to the molar ratio of 10 : 3 : 1 and using Rotavapor, it makes the thin film type in the evaporation for about 2 hours, 0.1 % (w/v) concanavalin A (Con A) solution 10 ml dissolved at the NaCl of 0.15 M is added and the endoplasmic reticulum is manufactured and it processes with ultrasonic wave for about 5 minute and a particle is uniformly and a liposome is manufactured. The OPSS coating liposome dissolves OPSS synthesized at the PBS buffer to the rate like the table 1 and it mixes with the liposome suspension and it enough agitates for 1 hour. The particle average size of the OPSS coating liposome manufactured is measured by using the electrophotonic light scattering spectrophotometer (ELS-8000, Photol, Japan).

OPSS를 리포솜 지질막에 코팅하기 위해, 먼저 리포솜을 다음과 같은 방법으로 제조한다. 인지질인 phosphatidylcholine과 stearylamine, cholesterol을 10 : 3 : 1 의 몰 비로 chloroform과 methanol (1:1 v/v)의 혼합 용매에 용해하여 회전증발기를 이용하여 약 2시간 동안 evaporation시켜 박막형태로 만든 후, 0.15 M의 NaCl에 용해한 0.1%(w/v) concanavalin A (Con A) 용액 10 ml를 첨가하여 소포체를 제조하고 약 5분 동안 초음파 처리하여 입자를 균일하게 하여 리포솜을 제조한다. OPSS 코팅 리포솜은 합성한 OPSS를 표 1과 같은 비율로 PBS buffer에 용해하여 리포솜 현탁액과 혼합하고 1시간 동안 충분히 교반한다. 제조한 OPSS 코팅 리포솜의 입자 평균 크기를 electrophotonic light scattering spectrophotometer (ELS-8000, Photol, Japan)를 이용하여 측정한다.

[Table 1]

[표 1]

OPSS:Lipid (weight ratio)	OPSS:Lipid (weight ratio)	Particle average size	입자 평균 크기
0 : 10	0 : 10	256 ± 30 nm	256 ± 30 nm
3 : 17	3 : 17	359 ± 90 nm	359 ± 90 nm
6 : 14	6 : 14	648 ± 39 nm	648 ± 39 nm
9 : 11	9 : 11	1016 ± 18 nm	1016 ± 18 nm

1-4. The reliability measure in the bile acid of the OPSS coating liposome.

1-4. OPSS 코팅 리포솜의 담즙산에서 안정성 측정

The reliability measure at the bile salts evaluates that it measures the change of the cloudiness to be the liposome which is not coated on the bile salts solution of the constant concentration and the hourly putting the OPSS coating liposome and is determined. While the glycocholic acid sodium solution (pH 5.6) 3 ml of 5 mM and 2.5 mM being added and 37℃ keeping in custody in the OPSS coating liposome (the OPSS:lipid=3:17 phosphorus case) solution 3 ml for 6 hours, it collects according to the fixed time zone and an absorbance is measured in 595 nm. By using the absorbance measured, the cloudiness is measured with an equation as follows.

담즙산염에서의 안정성 측정은, 일정 농도의 담즙산염 용액에 코팅되지 않은 리포솜과 OPSS 코팅 리포솜을 넣어 정해진 시간별로 탁도의 변화를 측정하는 것으로 평가한다. OPSS 코팅 리포솜 (OPSS:lipid=3:17인 경우) 용액 3 ml에 2.5 mM과 5 mM의 글리코콜린산나트륨 용액(pH 5.6) 3 ml를 가하여 37℃에서 6시간 동안 보관하면서 일정 시간대별로 채취하여 595 nm에서 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도를 이용하여 다음과 같은 식에 의해 탁도를 측정한다.

$$\text{Relative Turbidity} = A_t/A_0$$

$$\text{Relative Turbidity} = A_t/A_0$$

Here, a_0 is the initial absorbance of the liposome solution. A_t is an absorbance after the t time which mixes with the bile acid solution and done the cultivation.

여기서 A_0 는 리포솜 용액의 초기 흡광도이고, A_t 는 담즙산 용액과 혼합하여 배양한 t 시간 후의 흡광도이다.

Fig. 3 is a graph showing the stability at the bile salts. As to the liposome which is not coated, in the bile salts at 2.5 mM in the half an hour, the cloudiness showed 0.213 in 0.35, 5.0 mM. And it was seen that the cloudiness decreased after the respective 60 minutes and 120 minutes less than 0.1. In 2.5 mM bile salts, the cloudiness of the cloudiness showed 0.856 in the middle until 360 minutes in 0.92, 5.0 mM and this shows that the OPSS coating liposome is stable than the liposome which the liposome coated with the other side, and OPSS does not coat in the bile salts.

도 3은 담즙산염에서의 안정성을 나타낸 그래프이다. 코팅되지 않은 리포솜은 30분 만에 2.5 mM에서의 담즙산염에서는 탁도가 0.35, 5.0 mM에서는 0.213을 보였으며, 각각 60분과 120분 후에 탁도가 0.1 이하로 감소함을 보였다. 반면, OPSS로 코팅된 리포솜은 2.5 mM 담즙산염에서 360분까지 탁도가 0.92, 5.0 mM에서는 탁도가 0.856을 보였고 이는 코팅하지 않은 리포솜 보다 OPSS 코팅 리포솜이 담즙산염 내에서 안정하다는 것을 나타낸다.

1-5. A drug-releasing from the OPSS coating liposome.

1-5. OPSS 코팅 리포솜으로부터 약물 방출

The drug-releasing measurement puts in the liposome solution of the respective 1 ml into the simulated gastric fluid (SGF, pH 1.2) which is the artificial gastric juice or the simulated Intestinal fluid (SIF, pH 7.4) 20 ml which is the artificial intestinal juice and it puts for 48 hours in the water baths of 37°C and the drug-releasing measurement performs the emission experiment. After it was a withdrawal and 100 μ l sick was centrifuged at the predetermined time, after being a withdrawal and measuring an absorbance in 595 nm, it put in a supernate into the Con-A standard curve calculus and it was the fixed quantity.

약물 방출 측정은, 인공위액인 simulated gastric fluid (SGF, pH 1.2) 또는 인공 장액인 simulated Intestinal fluid (SIF, pH 7.4) 20 ml에 각각 1 ml의 리포솜 용액을 넣고 48시간 동안 37°C의 중탕기 속에 넣어 방출실험을 행한다. 일정 시간마다 100 μ l씩을 취하여 원심분리한 뒤, 상등액만 취하여 595 nm에서 흡광도를 측정한 후 Con A standard curve 계산식에 넣어 정량하였다.

Fig. 4 is a graph showing the drug-releasing at the artificial gastric juice. PS1 is the liposome in which the polysaccharide is not coated. PS2 and PS3 the rate of the respective OPSS large lipid is 3:17, 6:14. A drug more than 90% of PS1 is emitted in emission 4 hours. PS2 and PS3 show the quantity of emission less than 30% until 24 hours. Fig. 5 is a graph showing the drug-releasing at the artificial intestinal juice. 85.3%, and PS3 of 93.4%, and PS2 of PS1 was the quantity of emission of about 90.1% seen within 24 hours.

도 4는 인공위액에서의 약물 방출을 나타낸 그래프이다. PS1은 다당이 코팅되지 않은 리포솜이고, PS2와 PS3는 각각 OPSS 대 lipid의 비율이 3:17, 6:14인 경우이다. PS1이 방출 4시간 안에 90% 이상의 약물이 방출되고, PS2와 PS3는 24시간까지 30% 미만의 방출량을 보인다. 도 5는 인공장액에서의 약물 방출을 나타낸 그래프이다. 24시간 이내에 PS1이 93.4%, PS2가 85.3%, PS3가 90.1% 정도의 방출량을 보였다.

This presents that it is useful as the oral medicinal water communications while showing that the OPSS coating liposome is stable than the gastric juice.

이는 OPSS 코팅 리포솜이 위액에서 보다 안정하다는 것을 나타내며 경구용 약물 전달체로써 유용하다는 것을 제시한다.

■ Effects of the Invention

The present invention can improve the stability of the existing liposome and it can broaden the application range of a liposome as the drug carrier. A liposome can be coated by using Scleroglucan. It is stable as the oral medicinal water communications within the gastrointestinal tract and it effectually, effectively can reach within the small intestine and much more, the OPSS coating liposome is useful as the drug carrier.

본 발명은 기존의 리포솜의 안정성을 향상시키고 약물 전달체로서의 리포솜의 활용 범위를 넓힐 수 있다. Scleroglucan을 이용하여 리포솜을 코팅할 수 있고, OPSS 코팅 리포솜은 경구용 약물 전달체로서, 위장관내에 안정하여 효과적으로 소장내에 도달할 수 있어서 약물전달체로서 보다 더 유용하다.



Scope of Claims

Claim[1] :

The sulfate in the scleroglucan which is the polysaccharide and the step synthesizing O-palmitoyl.

다당인 scleroglucan에 sulfate기와 O-palmitoyl기를 합성하는 단계;

Claim[2] :

The step that unites a scleroglucan with a liposome and coated.

리포솜에 scleroglucan을 결합하여 코팅하는 단계;

Claim[3] :

It includes to use the liposome in which Scleroglucan is coated as the drug delivery system.

Scleroglucan이 코팅된 리포솜을 약물 전달 시스템으로 사용함을 포함한다.